

B 9 122
Istituto di Anatomia Patologica dell' Università di Pisa

RICERCHE SPERIMENTALI

SULL' AZIONE DEI BACILLI DELLA TUBERCOLOSI

DEI GALLINACEI E DEI MAMMIFERI

NELLA VITA EMBRIONALE ED ADULTA DEL POLLO

PEL

Dott. ANGELO MAFFUCCI

Prof. di Anatomia Patologica

(Estratto dalla Riforma Medica, Agosto 1889)

Istituto di Anatomia Patologica dell'Università di Pisa

RICERCHE SPERIMENTALI

SULL' AZIONE DEI BACILLI DELLA TUBERCOLOSI

DEI GALLINACEI E DEI MAMMIFERI

NELLA VITA EMBRIONALE ED ADULTA DEL POLLO

P E L

Dott. ANGELO MAFFUCCI

Prof. di Anatomia Patologica

(Estratto dalla Riforma Medica, Agosto 1889)

Continuando le mie ricerche dell'azione dei microbii sugli embrioni di pollo (1) nell'anno decorso, pubblicai i risultati ottenuti dell'innesto del bacillo della tubercolosi dei gallinacei sugli embrioni dei polli (2), notai allora come gli embrioni possono sopravvivere all'azione del bacillo della tubercolosi, la quale tardivamente negli stessi, dopo la schiusa, può svilupparsi.

Da questa mia nota molti dubbî possono sorgere intorno ai risultati ottenuti, non ultimo quello, che il bacillo della tubercolosi innestato alle uova al principio dell'incubazione sia restato inerte nel residuo dell'albumina senza essere assorbito dall'aja vascolare, o dalla vescica allantoide fino all'ultimo giorno dell'incubazione; ma quando il torlo entrava nella cavità addominale dell'embrione portava con se tracce di albumina e quindi l'infezione tubercolare dell'embrione di pollo avveniva, come se si fosse innestato il pulcino di tubercolosi al primo giorno della schiusa, e verificandosi questo fatto tutta la mia precedente nota perdeva di

(1) Contribuzione sperimentale alla Patologia delle Infezioni della Vita Embrionale — Rivista Internazionale, anno IV, 1887. Napoli.

(2) Ueber die tuberculöse Infection der Hühnerem — bryonen — Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde — V. Band, 1889, n. 7, Genu.

valore, quantunque le ricerche analoghe fatte con altri microbi, carbonchio, colera di pollo, pneumacocco di Friedländer, barbone dei bufali, mi autorizzassero a pensare, che il bacillo tubercolare può entrare nei tessuti dell'embrione molto tempo prima della schiusa, ma per toglier questo dubbio e per risolvere altri problemi ripresi una serie di ricerche.

I quesiti propostimi sono i seguenti:

1° Quali modificazioni subisce il bacillo della tubercolosi innestato nell'ambiente albuminoso dell'embrione dal principio dell'incubazione fino alla schiusa?

2° In quale epoca dell'incubazione il bacillo della tubercolosi entra nei tessuti dell'embrione e sotto quale forma?

3° Quale è la via, che percorre il bacillo della tubercolosi per pervenire nei tessuti embrionali?

4° Quale potere hanno i tessuti embrionali sul bacillo della tubercolosi, l'attenuano nella sua virulenza, lo modificano nella sua forma, o lo distruggono?

5° L'azione dei tessuti embrionali sul bacillo della tubercolosi è la stessa al principio, a metà ed a fine dell'incubazione?

6° Lo sviluppo dell'embrione viene modificato dall'azione del bacillo tubercolare?

7° Verificandosi quest'ultimo fatto, questa azione è dovuta al bacillo od ai suoi prodotti chimici?

8° È indifferente la diversa dose del bacillo tubercolare e l'epoca in cui viene innestata nelle uova per l'ulteriore sviluppo dell'embrione e per la vita del pulcino?

9° Quale è l'organo dell'embrione nel quale il bacillo tubercolare assorbito si raccoglie e sotto quale forma vi resta fino ad epoca inoltrata dalla schiusa?

10° I mezzi nutritivi, che circondano lo

embrione sono terreno adatto alla nutrizione del bacillo tubercolare?

11° Vi è differenza di decorso tra la tubercolosi degli embrioni divenuti pulcini e quella acquisita dei polli adulti?

12° Ciò che può dirsi per il bacillo della tubercolosi dei gallinacei può dirsi ancora per quello della tubercolosi dei mammiferi nel pollo adulto e nell'embrione?

Per risolvere tutti questi quesiti ho fatto delle ricerche su novanta embrioni viventi, uccisi in epoche diverse dell'incubazione, per ogni embrione sono state fatte ricerche istologiche sull'albumina, sul liquido amniotico, sul fegato, sul sangue, sulla milza, sul contenuto dello stomaco, sul liquido cloacale, sul torlo, sulla bile e sulle membrane degli annessi embrionali, (aia vascolare, vescica allantoide, amnios,) raggiungendo in alcune epoche della vita embrionale il numero di 150 preparati per embrione.

Però non potendo ottenere tutta la sicurezza dalla ricerca istologica sopradetta sono ricorso alla coltura (su siero di sangue coagulato) dell'albumina, del liquido amniotico, del fegato, del torlo, del sangue, del cervello, del contenuto dello stomaco, del liquido cloacale, della bile, ed ancora della milza negli ultimi giorni dell'incubazione e per ciascuno embrione si sono fatti non meno di otto innesti nei primi sei giorni d'incubazione e non meno di 27 a 30 innesti nell'epoca avanzata dell'incubazione, facendo per ciascuna parte sopradetta dell'embrione non meno di tre innesti per volta.

I pulcini venuti a schiusa innestati con le due specie di tubercolosi e con le sostanze chimiche del bacillo tubercolare sono stati al numero di settanta.

I polli adulti adibiti per le due specie di tubercolosi sono stati al numero di venti, le cavie ed i conigli adibiti per lo

stesso scopo sono stati al numero di dieci.

In queste ricerche non sono enumerate quelle, che sono state fatte sulle uova nelle quali o non si trovava l'embrione sviluppato, perchè infeconde, o morto, e la morte dello stesso embrione avveniva non per lo sviluppo del bacillo, ma per accidentalità e per ciò non se ne è tenuto conto.

Per lo studio della vegetazione del bacillo della tubercolosi dei gallinacei sulla albumina non fecondata e su quella fecondata sono state adibite venti uova.

Riordinare tutti questi esperimenti, e dare i risultati di ciascuno separatamente per ora non lo credo opportuno, perchè come si vedrà dall'esposizione sommaria dei fatti finora ottenuti sorge la necessità di risolvere nuovi problemi ed allora io con una memoria molto estesa esporrò tutti i fatti nei loro particolari, nonchè la letteratura delle osservazioni cliniche e sperimentali, che hanno rapporto diretto ed indiretto con le mie ricerche attuali, e specialmente quelle fatte sulla distruzione dei microbi nel sangue degli esseri viventi, onde notare, se lo stesso fatto, che avviene nella vita adulta degli animali refrattari alle infezioni sia da attribuirsi ancora all'embrione, che è refrattario all'azione dei microbi patogeni della vita adulta del pollo.

In questa circostanza esporrò ancora il metodo delle mie ricerche in parte noto pei lavori antecedenti pubblicati.

Stimando che, i risultati finora ottenuti sono per me degni di considerazione mi affretto a pubblicarli sotto questa forma di nota riassuntiva di tutto il mio lavoro finora eseguito. (1)

(1) In alcune uova si sono presentati gli embrioni con anomalie di sviluppo, cioè mancanza del saldamento delle pareti addominali, mancanza del becco, o di un globo oculare, e finalmente di mancanza di ossificazione del cranio, io non mi autorizzo a considerare

TUBERCOLOSI DEI GALLINACEI

I — *Serie di esperimenti*

Si sono innestate molte uova con coltura pura di tubercolosi dei gallinacei a principio dell'incubazione e messe ad incubare in stufa alla temperatura media di 39 gradi e poi si sono aperte in tutta l'epoca dell'incubazione giorno per giorno, esaminando, come sopra si è detto, fino al settimo giorno la sola albumina e le membrane vascolari, dal settimo giorno in poi il liquido amniotico e le singole parti dell'embrione; fino al sesto giorno si è innestata la sola albumina; dal settimo giorno in poi l'albumina, il liquido amniotico e l'embrione intero; dal nono giorno si sono innesti i singoli organi degli embrioni.

L'esame degli organi degli embrioni è stato fatto col solito metodo di Erlich per la ricerca dei bacilli tubercolari.

Il bacillo si riscontra fino al sesto giorno dell'incubazione nell'albumina sotto la sua forma regolare, però fino dal terzo giorno comincia a subire delle modificazioni, si rende più granuloso e gli spazi chiari dello stesso bacillo aumentano fra una massa colorata ed un'altra, le quali da bastoncini formi divengono sferiche e più piccole, ed alcuni bacilli mostrano all'estremo due piccole sfere colorate in violetto ed il centro completamente scolorato (usando il violetto di genziana come sostanza colorante), in altri bacilli si vedono masse sferiche colorate attaccate ad uno scheletro di bacillo (mi si passi la parola) poco colorato, fino a che queste sfere colorate

dette anomalie di sviluppo come conseguenza dell'infezione tubercolare, ma noto per ora il fatto della coincidenza di una infezione cronica con anomalie di sviluppo dell'embrione.

divengano del tutto libere dal bacillo, il quale resta sempre quasi poco colorato, si assottiglia sempre più nel suo spessore e poi scompare, altri bacilli infine senza avere degli spazi chiari nel loro asse longitudinale si rendono sempre più corti fino a prendere la forma sferica.

Per un bisogno di linguaggio provvisoriamente denomino queste forme sferiche risultanti dalla trasformazione del bacillo *forme granulari*. (1)

Dal sesto giorno in poi si riscontra nell'albumina il predominio delle forme granulari sui bacilli, i quali del resto si sono potuto riscontrare fino al 16° giorno d'incubazione nell'albumina però in numero molto scarso.

Le colture dell'albumina sono state sempre positive dalle prime 48 ore fino al ventesimo giorno dell'inubazione.

Nelle membrane vascolari dell'embrione non si è potuto riscontrare presenza di bacilli o di forme granulari in questa serie di esperimenti, distendendo e colorando dette membrane dal 3° al 14° giorno d'inubazione.

Negli embrioni di sesto, settimo, ottavo e nono giorno non ho mai potuto riscontrare nè bacilli e nè forme granulari, le loro colture sono restate sempre sterili.

Il fegato dell'embrione dal 10° giorno fino al 20-21° giorno d'incubazione ha dato

(1) Il prof Schrön fino dal 1884 ha dimostrato nei tessuti tubercolotici con uno studio suo speciale le varie trasformazioni del bacillo tubercolare.

Il Metchnikoff parla ancora di speciali trasformazioni del bacillo tubercolare specialmente nelle cellule giganti.

Roux e Nocard hanno egualmente parlato nelle vecchie culture di speciali trasformazioni del bacillo tubercolare.

Ho voluto ricordare solamente le ricerche fatte da questi autori per far notare, che la mia osservazione non è un errore di tecnica, ma un fatto possibile, cioè la trasformazione del bacillo in forma granulare sotto l'azione del potere chimico dell'embrione senza l'intervento di elementi cellulari.

sempre coltura positiva, l'esame istologico invece non ha fatto riscontrare mai bacilli, ma sempre forme granulari.

Rispetto alle colture noto il fatto, che le stesse erano moltorigogliose dal 10° al 17° giorno d'incubazione, però dal 18° giorno al 21° ed ancora in epoca avanzata dalla schiusa, ammazzando i pulcini a 5, 10, 15 giorni di vita, le colture dal fegato riuscivano scarse, stentate o completamente negative.

Nè dal cervello e nè dal sangue si è mai ottenuta una coltura di tubercolosi in questa serie di esperimento, l'esame istologico di questi tessuti è stato sempre negativo rispetto ai bacilli ed alle forme granulari.

Il torlo dal principio dell'incubazione fino al 16° giorno ha dato sempre risultato negativo con le colture e con l'esame istologico.

Dal liquido amniotico nè nei preparati istologici nè nel colture si è avuto un risultato positivo fino al 14° giorno, da quest'epoca in poi invece si è ottenuta la coltura del liquido amniotico.

Dallo stomaco dall'11° giorno in poi si è ottenuta sempre la coltura fino al 21° giorno; dall'esame istologico del contenuto dello stomaco dal quattordicesimo giorno si è potuto riscontrare qualche bacillo fortemente granuloso e forme granulari, queste ultime forme dominavano a preferenza nel contenuto dello stomaco degli embrioni del 17, 18, 19, 20, 21 giorno.

Nel contenuto del liquido cloacale si è riscontrata ora la forma del bacillo granuloso ed ora le forme granulari, però dal 15° giorno in poi.

L'innesto dell'albumina del 5, 10, 15, 20° giorno d'incubazione nella cavità addominale dei polli adulti è riuscito positivo, perchè sono morti di tubercolosi.

L'innesto di embrioni interi al decimo

giorno d' incubazione nella cavità addominale dei polli adulti è restato infecondo, invece il fegato di questi stessi embrioni di 10 giorni innestati sui sostrati nutritivi ha fatto notare scarse colonie di bacilli.

L'innesto di fegato di embrioni del 15° e 18° giorno d' incubazione nella cavità addominale delle galline è stato positivo, perchè le stesse sono morte di tubercolosi.

Virulenti sono state ancora le colture del fegato a 10 giorni, e dello stomaco a 15 giorni dell' incubazione.

Da questi esperimenti si possono trarre le seguenti conclusioni :

1° Che il bacillo della tubercolosi dei gallinacei nell'albumina subisce una modificazione sotto l' azione dell' embrione, trasformandosi in forma granulare e sotto questa forma a preferenza perviene negli organi degli embrioni.

2° Che l' entrata del virus tubercolare nei tessuti embrionali comincia tra il nono ed il decimo giorno dell' incubazione.

3° Che il virus tubercolare si raccoglie a preferanza nel fegato e nello stomaco dello embrione.

4° Che nè il liquido amniotico e nè il torlo sono le vie d' entrata del virus tubercolare nei tessuti dell' embrione.

6° Che il bacillo della tubercolosi modificato nella sua forma, quando entra dall'albumina nei tessuti dell'embrione, non trova negli stessi le condizioni di sviluppo durante il resto del periodo d' incubazione, come ancora nei tessuti dei pulcini nei primi giorni dalla schiusa.

7° Che però le forme granulari del bacillo contenuti negli organi degli embrioni sono capaci di dar sviluppo a colonie di bacilli sui sostrati nutritivi.

8° Che dette forme granulari del bacillo riscontrate negli organi hanno ancora il potere di generare tubercolosi con bacilli

nei polli adulti e perciò conservano la loro virulenza.

II — *Serie di esperimenti*

Se è dimostrato dagli esperimenti antecedenti, che il virus tubercolare non si riscontra nei tessuti embrionali prima del nono giorno, però non è tolto il dubbio, che il virus tubercolare può penetrare ancora prima di quest'epoca nei tessuti embrionali, avendo questi tessuti alla loro volta il potere di distruggerlo: al decimo giorno cessando detto potere distruttore il virus, che trovasi ancora nell'albumina viene assorbito ed è appunto quello, che si riscontra nei tessuti embrionali: per togliere questo dubbio, nel sesto giorno di incubazione (epoca in cui il sacco amniotico è formato, l'aia vascolare è maggiormente sviluppata, la vescica allantoide è in via di sviluppo, tutte le condizioni opportune all'assorbimento dell'albumina e del contenuto della stessa); a quest'epoca adunque si sono innestate alcune uova con forti dosi di brodo carico di bacilli tubercolari (2|10 dicc.) e non dando il tempo all'embrione di compiere l'atto della distruzione dei bacilli tubercolari, le uova perciò sono state aperte dopo sei ore, dopo ventiquattro e quarantotto ore dall'iniezione: i risultati sono stati: che nè nel liquido amniotico, nè nei tessuti dell'embrione messi a coltura si è riscontrato il bacillo tubercolare, nè l'esame della vescica allantoide e dell'aia vascolare ha fatto notare, che nei vasi di queste membrane vi erano bacilli tubercolari.

Questo esperimento realmente ci assicura, che prima del decimo giorno, dell'incubazione nei tessuti embrionali non vi penetra il bacillo tubercolare.

Il fatto dell'epoca dell'assorbimento del bacillo tubercolare sta secondo me

ligato alle condizioni anatomiche dell'embrione del pollo, cioè, che la vescica allantoide appunto verso il nono ed il decimo giorno dell'incubazione nel celoma esterno si addossa al carion dirigendosi verso il piccolo polo dell'uovo e forma intorno all'albumina residuale ciò, che, in embriologia del pollo, si chiama sacco placentoides; la membrana vitellina non permette l'assorbimento dall'albumina per mezzo dell'aia vascolare; e nè l'amnios deve essere una via di assorbimento dei bacilli, perchè nel liquido amniotico non si riscontrano bacilli prima del 14° giorno dell'incubazione.

III — *Serie di esperimenti*

Se è accertato dagli esperimenti precedenti, che realmente l'assorbimento del bacillo tubercolare da parte dei vasi dell'embrione avviene tra il nono ed il decimo giorno d'incubazione, però non resta accertato se il bacillo debba assolutamente prima subire la trasformazione granulare nell'albumina per essere assorbito: e verificandosi questo fatto, sotto questa forma il virus tubercolare può restare innocuo, per cui l'embrione rimane immune dall'infezione tubercolare non per il suo potere di resistenza alle infezioni, ma perchè la forma granulare del bacillo non ha qualità virulenti. 12

A risolvere la quistione, che realmente per il bacillo tubercolare non è necessario, che subisca la forma granulare per penetrare nei tessuti embrionali, e che realmente l'embrione ha una resistenza contro l'infezione del bacillo tubercolare, si sono fatti i seguenti esperimenti:

A dieci giorni d'incubazione furono inoculate alcune uova con 2[10 di cc. di coltura di bacilli in siero di sangue liquido ca-

rico di forme bacillari e furono aperte le uova dopo 24, 48 ore.

Gli embrioni erano viventi, nel fegato si trovarono solamente forme granulari, mentre che nell' albumina circostante vi erano bacilli bene conservati, si coltivò il fegato e si ottennero colonie di bacilli, come pure dall' innesto della coltura dello stomaco; riuscirono invece negative le colture del liquido amniotico e del torlo, nell' aia vascolare e nella vescica allantoide non si riscontrarono bacilli: quest' esperimento non fa che confermare, che realmente al decimo giorno dell' incubazione può avvenire l' assorbimento del virus tubercolare nei tessuti embrionali, ma non risponde alla nostra domanda.

Allora si fanno altri esperimenti a tredici giorni d' incubazione, innestando altre uova con la stessa dose di bacilli e si aprono dopo sei ore e dopo ventiquattro e quarantotto ore.

Dopo sei ore nell' albumina si riscontrano bacilli, l' innesto del liquido amniotico resta negativo, come pure l' innesto del contenuto dello stomaco, l' innesto del fegato invece fa notare sviluppo di colonie di bacilli, però nei preparati dello stesso fegato non si riscontrano bacilli, nei vasi dell' aia vascolare non si riscontrano bacilli, nei vasi della vescica allantoide invece si riscontrano bacilli ben conservati.

Dopo 24 e 48 ore dal liquido amniotico si ottiene sviluppo di colonie bacillari innestato su siero, come pure coltura dal fegato, dallo stomaco; nel fegato non si riscontrano bacilli, ma forme granulari, nello stomaco invece si rinviene enorme quantità di bacilli, la coltura del torlo resta negativa, come pure quella del sangue del cuore, nell' aia vascolare non vi sono bacilli, come pure nei vasi della vescica allantoide.

Dopo 14 giorni d' incubazione s' innestano

altre uova con la stessa dose e si aprono dopo 24, 48, 72 ore.

Nell'albumina si riscontrano bacilli e forme granulari; dal fegato, dal liquido amniotico, dallo stomaco e dalla bile innestati su sostrati nutritivi si ottengono colture, però nel fegato non si riscontrano bacilli, ma forme granulari; all'opposto si riscontrano bacilli nello stomaco e nei vasi della vescica allantoide, e ciò dopo 24 ore.

Dopo 48, 72 ore nello stomaco si riscontrano bacilli ma scarsi, predominano invece le forme granulari. Si ottengono colture dal liquido amniotico, dal fegato, dallo stomaco; però dalla bile, dal torlo e dalla cloaca le colture riescono negative.

Dopo 18 giorni d'incubazione s'innestano altre uova con la stessa dose e si aprono dopo sei, ventiquattro, quarantotto ore.

Dopo sei ore si trova nella bile qualche bacillo, nel fegato invece forme granulari, nel sangue forme granulari e bacilli, nello stomaco forme granulari, ma non bacilli, come pure nella cloaca.

Si ha coltura dal fegato, dalla bile, dal sangue, dal torlo, dallo stomaco e dalla cloaca.

Dopo 24 e 48 ore nello stomaco vi sono molti bacilli, come pure nella cloaca, nel fegato non bacilli ma forme granulari, si ha sviluppo di colonie dal fegato, dallo stomaco, dalla cloaca, dal torlo, ma non dalla bile e nè dal sangue. In tutta questa serie di esperimenti gli embrioni sono stati sempre viventi.

Questa serie di esperimenti ci dimostra adunque, che realmente il bacillo tubercolare può entrare con la sua solita forma nei tessuti embrionali, e riuscire innocuo per l'embrione, perchè nel circolo sanguigno resta poco tempo e però può essere eliminato dalla bile e raccogliersi nello stomaco e nella cloaca ed ancora in questo secondo caso riesce il bacillo innocuo per l'embrione.

IV. — *Serie di esperimenti*

Assodato il fatto, che il virus tubercolare entra nei tessuti dell'embrione dal decimo giorno o sotto forma granulare o di bacillo e resta innocuo per l'embrione, dopo ciò sorge subito l'idea se lo stesso ha il potere di trasformare il bacillo in forme granulari, come appunto avviene nell'albmina, e se per effettuarsi questo fatto vi bisognano tempo, condizioni speciali chimico-vitali, ovvero potere fagocitico degli elementi embrionali; per risolvere adunque quest'altro quesito si sono fatti i seguenti esperimenti:

Al decimo giorno d'inubazione si sono innestate molte uova con 2|10 di cc. di brodo carico di bacilli per ciascun uovo, come per gli esperimenti antecedenti; e si sono aperte dopo 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21 giorno d'incubazione.

I risultati sono stati i seguenti:

Nel fegato non si sono incontrati mai bacilli, ma sempre forme granulari; le colture del fegato invece hanno dato sempre risultato positivo:

Nello stomaco dal quattordicesimo al quindicesimo giorno si sono riscontrati bacilli in quantità eccessiva, però al 17, 19, 20, 21 cominciavano a diminuire i bacilli e predominare le forme granulari, al 21° giorno appena comincia a schiudersi l'embrione, ricercando nel suo stomaco, si sono riscontrati solamente forme granulari e non bacilli.

Nel liquido cloacale si sono trovati più forme bacillari, che forme granulari verso il 15, 17, 19, 20, 21° giorno.

Si ottennero sempre colture dallo stomaco dal 12.° al 21° giorno.

Negativa è stata sempre la coltura del sangue, come pure della bile.

Nel liquido amniotico solamente negli

ultimi giorni si sono riscontrati bacilli, e la coltura dello stesso liquido è stata positiva ancora negli ultimi giorni (17-19 giorni).

Dal torlo si è ancora ottenuta coltura negli ultimi giorni d'incubazione.

Nell'albumina quantunque il bacillo fu innestato al decimo giorno, pure si trasformava gradatamente in forme granulari, tanto, che verso il 18, 19, 20 giorno si trovarono scarsi bacilli e molte forme granulari.

Da questi esperimenti indubitatamente si dimostra, che il bacillo tubercolare viene ancora trasformato in forme granulari negli organi dell'embrione, e fra questi nello stomaco a preferenza.

Le ricerche istologiche non mi hanno mai fatto riscontrare cellule con potere fagocitico, perciò io credo che il fenomeno della trasformazione del bacillo in forme granulari debba attribuirsi ad un fatto chimico, cioè al potere peptonizzante dell'embrione, e ciò per la ragione semplicissima, che nel contenuto albuminoso degli embrioni di pollo col progredire dell'incubazione aumentano i peptoni, ed infatti la trasformazione granulare del bacillo nell'albumina progrediva col progredire dell'incubazione, certamente nessuno penserà, che questo fenomeno sia dovuto a potere fagocito, quando si sa, che nella albumina non vi sono cellule speciali.

Rispetto allo stomaco dell'embrione io stimo, che debba invocarsi lo stesso potere peptonizzante per la trasformazione del bacillo in forme granularie, perchè non ho riscontrato cellule epiteliali del contenuto dello stomaco con inclusione di bacilli.

Nel sangue in cui rapidamente scompare il bacillo non posso attribuire questo fatto ad un potere fagocito dei suoi elementi istologici, perchè non ho riscontrato mai

corpuscoli sanguigni con contenuto di bacilli, ma nemmeno posso escludere detto potere, e così ancora pel fegato: però in quest'ultimo organo si raccoglie il virus tubercolare sotto forma di granuli coltivabili e trasformabili in bacilli sui substrati nutritivi.

Io credo che nel liquido cloacale deve mancare il potere peptonizzante, perchè il bacillo quivi riscontrato conservava la sua forma regolare, quando nello stomaco già aveva subito la trasformazione granulare.

Del liquido amniotico fin dal 14° giorno in poi si è ottenuta la coltura, sia che le uova erano innestate a principio dell'incubazione, che a metà; questo fatto per me va interpretato come un semplice trasporto del bacillo dal liquido cloacale nel liquido amniotico e non per un passaggio del bacillo dal liquido amniotico nello stomaco, e ciò perchè le colture dello stomaco sono state positive fino dal dodicesimo ed undicesimo giorno d'incubazione.

Resta ancora un altro fatto ad interpretare, cioè la mancanza delle colture di bacilli tubercolari da parte del torlo dal principio dell'incubazione fino al 16° giorno, epoca in cui da questo mezzo nutritivo dell'embrione si ottenevano colture di bacilli tubercolari, i quali si rinvenivano ancora nel residuo della vescica ombelicale degli embrioni degli ultimi giorni, e qualche altra volta nel residuo della stessa vescica ombelicale di pulcini di venti giorni.

Questo fatto per me è in accordo con l'anatomia embrionale del pollo, cioè che la membrana vitellina resta ancora ligata al torlo in corrispondenza del forame dell'ombelico della vescica ombelicale, la quale membrana vitellina si raggrinza e si distacca in parte verso il 14, 15 e 16 giorno d'incubazione, epoca in cui si forma

un sacco imbutiforme in corrispondenza dell'ombelico della vescica ombelicale (1), il quale sacco a quest'epoca comunica ancora con la vescica ombelicale ed in questo periodo appunto può avvenire il passaggio del bacillo dall'albumina nel torlo.

La presenza del bacillo nello stomaco, può per me spiegarsi per una speciale segregazione della mucosa stomacale, fatto che si riscontra ancora da parte della bile: quantunque per me non sia ancora un fatto completamente assodato, perchè le nostre nozioni sulla segregazione gastrica dell'embrione non sono ben stabilite come quelle sulla segregazione gastrica dell'animale adulto. Non trovo però nessuna difficoltà a pensare, che il bacillo tubercolare, che può penetrare nei vasi della vescica allantoide vada a depositarsi nello stomaco dell'embrione. Per le mie ricerche non preme sapere se lo stomaco sia o pur no una superficie segregante di bacilli tubercolosi nella vita embrionale, a me preme costatare la presenza dei bacilli nei tessuti embrionali e dell'avvenire degli stessi bacilli. Io però sono indotto a pensare, che la superficie dello stomaco sia una membrana segregante, perchè il bacillo ivi non vi perviene nè dal torlo perchè il canale della vescica ombelicale comunica con l'intestino e non con lo stomaco, nè dal liquido amniotico, per i fatti innanzi accennati.

Per togliere ancora il dubbio, che le quantità del liquido amniotico innestato sui sostrati nutritivi fossero stato poche e con scarsi bacilli, e per cui non era possibile ottenere una coltura, ho voluto raccogliere il liquido amniotico con siringa sterilizzata e seminavri fino a 10 gocce per tubo, e con tutto ciò fino al 14° giorno le colture sono state negative.

(1) Mathias Duval — Atlas d'Embriologie, Paris, 1889.

V. — *Serie di Esperimenti*

Dagli esperimenti precedenti può venirsi alla conclusione, che la trasformazione del bacillo della tubercolosi in forma granulare tanto nel sangue, che nello stomaco dell'embrione è dovuta al potere pepnotizzante dei tessuti embrionali, e non al potere fagocitico degli stessi.

Ma per l'albumina, che ha lo stesso potere di trasformare il bacilio in forme granulari si può ancora invocare il potere peptonizzante dell'embrione attraverso questa sostanza nutritiva, appunto perchè i peptoni aumentano nell'albumina a misura che si avvanza lo sviluppo dell'embrione? O va ammessa ancora la possibilità, che l'albumina sia un mezzo inadatto alla nutrizione del bacillo, e perciò questo si disfà in granuli?

Per risolvere questo quesito si sono fatti i seguenti esperimenti:

1° Si è raccolta l'albumina dalle uova rapidamente in tubi sterilizzati e dopo tenuti per varii giorni a 37 gradi, sicuro, che l'albumina non era inquinata da altri microbii, si è innestato nella stessa il bacillo della tubercolosi.

2° In altre uova si è fatto un foro e con un ago d'innesto si è deposto il bacillo tubercolare nell'albumina, saldato il foro con ceralacca, si sono poste dette uova alla temperatura di 35, condizione opportuna allo sviluppo del bacillo tubercolare e non dell'embrione.

Dopo quattro settimane esaminate tanto le albumine esposte all'azione dell'ossigeno, quanto quelle racchiuse nel guscio dell'uovo, in cui lo scambio dell'ossigeno è scarso, si è potuto notare, che il bacillo tubercolare non solo non si era sviluppato, ma conservava ancora la sua forma regolare, per cui nè la mancanza

dell'ossigeno, nè la presenza dell'ossigeno influiscono sulla forma del bacillo e sulla sua coltivabilità nell'albumina comune.

Però l'albumina fecondata ed incubata ha diversa composizione chimica della comune albumina delle uova, e per accertarci prima, se in questo mezzo il bacillo sia coltivabile e che la sua distruzione è dovuta al potere peptonizzante dell'embrione, si sono fatti i seguenti esperimenti:

1° Da uova fecondate ed incubate verso il settimo e l'ottavo giorno si è sottratta dell'albumina e depositata in tubi sterilizzati, e per varii giorni a 60 gradi si è fatto una sterilizzazione scontinua della stessa, e vi si è posteriormente innestato il bacillo tubercolare, il quale dopo tre settimane a 37 gradi, si era fortemente sviluppato.

2° Alcune uova, le quali erano stato innestate col bacillo tubercolare e poste ad incubare, furono sottratte dalla stufa a 16 giorni, epoca in cui quasi tutti i bacilli della tubercolosi sono trasformate in forme granulari nell'albumina circostante, dopo 48 ore, dopo morto l'embrione, furono rimesse in stufa a 37 gradi e dopo tre settimane nelle stesse, quantunque lo scambio dell'ossigeno non fosse in condizioni molto opportune, il bacillo della tubercolosi si era fortemente sviluppato.

3° In uova nelle quali si era sviluppato l'embrione fu innestato al 10 giorno d'incubazione il bacillo tubercolare, saldato il foro con ceralacca, furono tenute per 48 ore all'ambiente, dopo morto l'embrione, furono rimesse in stufa a 37, dopo tre settimane si è trovato grande sviluppo del bacillo tubercolare.

4° In uova aperte al 21 giorno d'incubazione, innestate al primo giorno, nelle

quali uova l'embrione era morto tra il quarto e il quinto giorno, non solo non si è trovato disfatto il bacillo, ma questo si è moltiplicato in tutta l'albumina, avendolo solamente innestato al polo.

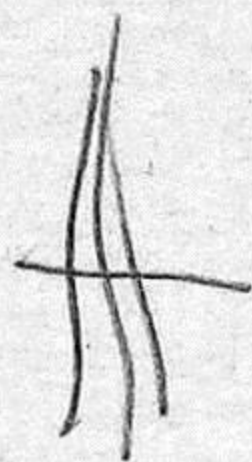
Da questi fatti esposti si può dire, che mentre l'albumina fecondata ed incubata è un terreno opportuno per lo sviluppo del bacillo tubercolare anche con scarso scambio di ossigeno, pure in quest'albumina finchè l'embrione è vivente il bacillo tubercolare non si sviluppa, anzi si trasforma in granuli, per cui lo stesso potere peptonizzante dell'embrione si esercita tanto nei suoi tessuti, che nei suoi mezzi nutritivi.

VI. — *Serie di esperimenti*

Assodato il potere peptonizzate dell'embrione sul bacillo tubercolare, che non solo è sciolto in granuli, ma ancora impedito nel suo sviluppo, si vuole sapere a che epoca della vita extraembrionale i granuli divengano bacilli capaci di generare la tubercolosi.

L'organo dell'embrione, nel quale si accumulano le forme granulari è il fegato ed in quest'organo cominciano appunto i primi fatti delle lesioni tubercolari nei pulcini, perciò si è cominciato ad analizzare quest'organo con numerosi tagli microscopici dal primo giorno della schiusa, fino a trenta giorni dalla stessa.

Dal primo giorno fino al ventesimo giorno dalla schiusa nel fegato del pulcino non si trovano mai bacilli, solamente di rado si vedono delle forme granulari — però verso il ventesimo giorno comincia a comparire qualche scarso bacillo piccolissimo contenuto in alcune cellule epatiche, al venticinquesimo giorno non si trovano condizioni migliori di sviluppo del bacillo tubercolare, al trentesimo giorno i



bacilli cominciano a formar degli accumuli, alcuni più piccoli ed altri più grossi, però tutti i bacilli sono senza spazii chiari misti ancora a forme granulari, ed intorno a detti accumuli comincia ancora una modificazione del parenchima epatico con accumuli di leucociti.

Da questi fatti si viene alla conclusione, che il bacillo tubercolare trova ancora resistenza nei tessuti del pulcino per il suo sviluppo nei primi giorni della schiusa, ciò che non avviene nei polli adulti innestati con colture pure nella cavità addominale, nei quali fino dal 10° o 15° giorno dall'innesto, nel mesentero e nel fegato si riscontrano piccoli tubercoli con bacilli.

Dall'entrata del virus tubercolare nei tessuti embrionali, al 10° giorno di incubazione, fino al 30° dalla schiusa nei tessuti dei pulcini non si hanno tubercoli, passano perciò circa 40 giorni dall'innesto, mentre che nei polli adulti vi bisognano appena 15 giorni in media per avere la tubercolosi.

VII. — *Serie di esperimenti*

Si sono notato negli esperimenti antecedenti tre fatti.

1°. Che il bacillo innestato nei primi giorni dell'incubazione entra a preferenza sotto forma granulare nei tessuti embrionali, mentre che innestato il bacillo a metà d'incubazione questo entra nei tessuti embrionali con la sua forma regolare.

2°. Che le colture fatte dai tessuti embrionali innestati a principio dell'incubazione erano quasi sempre più scarse e più stentate di quelle fatte dagli organi di embrioni innestati a metà dell'incubazione.

3°. Che da alcuni organi (fegato, stomaco), di embrioni di 18-19-20 giorni innestati a principio dell'incubazione, come

pure dagli organi di pulcini di terzo e quinto giorno dalla schiusa le colture restarono sterili.

Da questi fatti sorge immediatamente l'idea, se abbia influenza sul decorso della tubercolosi degli embrioni divenuti pulcini, la diversa quantità dei bacilli, e l'epoca dell'innesto, e se infine l'embrione abbia il potere di distruggere i bacilli innestati a piccole dosi per spiegare la ragione della sterilità di alcune colture.

Per risolvere questi problemi si sono fatti i seguenti esperimenti:

1.° Si sono innestate delle uova a principio dell'incubazione con due decimi di centimetro cubico di brodo contenente molti bacilli.

2.° Si sono innestate delle uova con un decimo di centimetro cubico di brodo con bacilli egualmente a principio dell'incubazione.

3.° Si sono innestate uova con un ventesimo di centimetro cubico di brodo con bacilli a principio dell'incubazione.

4.° Si sono innestate uova con due decimi di centimetro cubico di brodo con bacilli a metà dell'incubazione.

5.° Si sono innestate uova con un ventesimo di centimetro cubico di brodo con bacilli a metà d'incubazione.

Da tutti questi esperimenti si sono avuto pulcini viventi, la cui vita media è oscillata tra i 15 ai 40 giorni, poco avendovi avuta influenza la quantità dei bacilli e l'epoca del loro innesto però ben differenti sono state le lesioni negli organi di questi pulcini sia per grado d'intensità, che per l'epoca delle loro manifestazioni, a secondo la dose del virus tubercolare e l'epoca dell'innesto dello stesso.

Qui citerò alcuni esempi per ciascuna serie di esperimento:

Nel fegato di pulcini innestati a principio dell'incubazione con due decimi di centimetro cubico di brodo, dai 20 giorni in poi dalla schiusa, si cominciano a notare scarsi bacilli, ma non tubercoli.

Nel fegato di pulcini innestati con un $1/10$ di c.c.: a principio dell'incubazione non prima di trenta giorni, cominciavano a comparire scarsi bacilli con piccolissimi tubercoli; a 40 giorni i tubercoli erano più grandi, ma sempre con scarsi bacilli.

Nel fegato di pulcini, innestati con un ventesimo di centimetro cubico a principio dell'incubazione, non si sono notati a 30 giorni ne' tubercoli e ne' bacilli, e tutti i pulcini sono morti con forte marasma.

Nel fegato di pulcini invece innestati con $2/10$ di c. c: a metà d'incubazione, fin dal 20° giorno della schiusa, si notava formazione iniziale di accumuli di bacilli con modificazioni del parenchima epatico; verso il 30° o 40° giorno poi si notavano tubercoli e molti bacilli.

Nel fegato di pulcini, provenienti da embrioni innestati a metà d'incubazione con $1/20$ di centimetro cubico di brodo, a 20 giorni dalla schiusa si vedeva appena qualche bacillo.

Da questi fatti si viene alla conclusione, che a parità di condizione il bacillo innestato a piccole dosi a principio della incubazione, può essere distrutto da' tessuti embrionali, perchè a 30 giorni dalla schiusa non si manifesta sotto forma di tubercolo come negli altri esperimenti fatti con forti dosi; ma l'embrione con tutto ciò muore, e per me per avvelenamento dei prodotti chimici risultanti dal disfacimento del bacillo tubercolare.

VIII — *Serie di esperimenti*

Sia osservando gli embrioni innestati con bacillo della tubercolosi a diversa

epoca dell'incubazione, sia osservando i pulcini infettati, che venivano a schiusa, si manifestavano sempre più piccoli e meno resistenti a parità di condizione di quelli provenienti da uova di controllo, spesso un embrione di 18 giorni infettato era grande quando uno di dieci giorni non infettato.

Il fatto, che gli embrioni nati sotto la influenza della tubercolosi hanno un peso inferiore a quelli sani, trova un riscontro nelle osservazioni del dottor La Torre sui feti nati da genitori tubercolatici nella specie umana, i quali feti all'epoca della nascita hanno circa cinquecento grammi di meno dei feti nati da genitori sani, senza che nei feti si sia riscontrata tubercolosi in atto.

Da quanto ho esposto, perchè il bacillo era stato trasformato in forme granulari o distrutto, non potevasi allo stesso attribuire il degradamento nutritivo degli embrioni, mi sorse perciò l'idea, che tutto il processo d'ipotrofia degli embrioni e dei pulcini doveva riferirsi ai prodotti chimici del disfacimento del bacillo, od a quelli dallo stesso segregati nelle colture: per risolvere questo problema si sono fatti i seguenti esperimenti:

Tubi di siero liquido, nei quali si era sviluppato il bacillo della tubercolosi, furono saldati agli estremi e sterilizzati a 60 gradi con sterilizzazione scontinua: furono saldati i tubi per due ragioni, primo, perchè se vi erano prodotti volatili questi non venivano a quel grado di temperatura eliminati, secondo, per togliere il contatto dell'aria, perchè si sa che l'ossigeno ha potere ossidante delle sostanze azotate, e perciò la possibile trasformazione di un veleno chimico in un prodotto innocente.

Per essere sicuri della sterilizzazione delle colture, dalle stesse si fecero innesti

in tubi di siero ed in alcune galline, queste per tre mesi restarono sane, fatto provato con l'autopsia, i tubi per due mesi restarono sterili; e qui dico di passaggio, che il bacillo sterilizzato non si altera nella sua forma, e si calora egualmente bene.

Dopo ciò furono innestate delle uova a principio dell'incubazione con 2/10 di centimetro cubico di colture sterilizzate.

Molti embrioni morirono durante l'incubazione, altri appena nati erano d'una piccolezza estrema, del peso di venticinque grammi, alcuni morirono appena nati, al massimo dopo quarantotto ore, gli altri che sono sopravvissuti si sono conservati sempre piccini, emaciati, pallidi, a trenta giorni cominciano poi a morire in un'estrema atrofia con piume cascanti: all'autopsia tutti gli organi sono pallidi, atrofici; l'esame istologico ha dato il seguente risultato: nel fegato non presenza di bacilli e ne' tubercoli, però il connettivo del fegato, specialmente intorno ai grossi vasi biliari e sanguigni è alquanto ispessito sclerotico.

IX — *Serie di esperimenti*

A scopo di conoscere il decorso della tubercolosi dei polli adulti in raffronto con quella della tubercolosi embrionale furono innestati sette polli nella cavità addominale con le stesse colture adibite per le uova, che diedero pulcini a schiusa, e detti polli furono conservati in vita fino alla loro morte; la dose del brodo contenente bacilli tubercolari innestata per ciascun pollo fu di 4/10 di cent. cubico.

La media della mortalità è oscillata dai 26 giorni ai quattro mesi e mezzo.

Se il decorso della tubercolosi dei polli adulti si raffronta con quello dei pulcini si può dire, che realmente non vi è grande differenza, giacchè vi sono stati pulcini,

che sono sopravvissuti fino a quattro mesi e mezzo, però a parità di condizioni la morte è più precoce nei polli, che riportano la tubercolosi dalla vita embrionale, invece le manifestazioni morbose sotto forma di tubercoli sono più precoci nei polli adulti, che vennero innestati nella cavità addominale.

TUBERCOLOSI DEI MAMMIFERI

X = *Serie di esperimenti*

Molti autori hanno sostenuto, che la tubercolosi dei polli possa essere la stessa di quella dei mammiferi.

In altra mia pubblicazione sostenni la nessuna recettività dei polli adulti per la tubercolosi dei mammiferi: fatto messo in maggior luce posteriormente dallo illustre prof. R i v o l t a e da altri ricercatori francesi. Straus, Wurtz, Martin.

Io allora innestai molti espettorati nella cavità addominale e nel tessuto cellulare sottocutaneo dei polli, espettorati carichi di bacilli tubercolari, ma ho notato ancora posteriormente, che la stessa tubercolosi dei gallinacei innestata nel tessuto cellulare sottocutaneo del pollo resta come fatto locale, formandosi un tubercolo, che guarisce, tal quale come avveniva degli espettorati di tubercolotici innestati nel tessuto cellulare sottocutaneo delle galline; ho notato ancora un altro fatto, che dei frammenti di fegato di pollo con tubercolosi dei gallinacei innestati nella cavità addominale di galline molto grasse, questi frammenti di fegato restavano in mezzo al tessuto adiposo, e le galline non divenivano tubercolotiche.

Ora da tutti questi fatti accennati, e specialmente dal restar immune le galline grasse innestate nella cavità addominale con tubercolosi dei gallinacei mi è sorto

il dubbio, che i miei passati esperimenti con la tubercolosi dei mammiferi innestati ai polli non fossero concludenti, perchè gli espettorati dei tisici restarono incapsulati in mezzo al grasso addominale dei polli come i frammenti del fegato tubercolotico. Dall'altra parte da recenti ricerche si sa, che i polli nutriti con molti chilogrammi d'espettorati di tisici con bacilli specifici sono restati immuni dalla tubercolosi umana.

A scopo perciò di conoscere, se realmente vi è parentela tra la tubercolosi dei gallinacei e quella dei mammiferi, io ho voluto riprendere la quistione, però servendomi di colture pure, cioè innestando grandi dosi di colture di tubercolosi umana nella trachea di alcuni polli, e nella cavità addominale di altri, dopo tre mesi detti polli sono restati immuni, constatati con l'autopsia e con ricerche istologiche degli organi, mentre che le cavie innestate contemporaneamente ai polli morirono di tubercolosi dopo due mesi.

Le cavie poi ed i conigli innestati con tubercolosi dei gallinacei nel tessuto cellulare sottocutaneo, tranne fatti locali, ascessi, che guariscono, dopo quattro mesi sono restati immuni dalla tubercolosi, fatto constatato con l'autopsia degli stessi animali.

Esaminando i bacilli delle due varietà di tubercolosi, vi sono ancora manifeste differenze: i bacilli della tubercolosi dei mammiferi sono più corti e più spessi di quelli della tubercolosi de' polli, i bacilli di questi invece sono più lunghi e più sottili: i bacilli della tubercolosi dei mammiferi nelle giovani colture hanno più spazi chiari nel loro asse longitudinale; quelli della tubercolosi dei gallinacei presentano degli spazi chiari solamente nelle vecchie colture.

In quanto alla colorazione i bacilli della

tubercolosi dei mammiferi si colorano meno presto di quelli della tubercolosi dei gallinacei, i quali dopo dieci minuti a freddo coi colori di anilina (violetto di genziana) sono bene colorati e resistono all'azione degli acidi senza decolorarsi.

Lo sviluppo delle colture è egualmente diverso nelle due specie di tubercolosi: quella dei gallinacei dopo due settimane sopra il siero di sangue coagulato glicerinato si manifesta sotto forma di tanti punti sferici, come macchie di cera bianca, che tendono ad estendersi in superficie sotto forma di una cotenna biancastra, lardacea, facilmente distaccabile dalla superficie del sostrato nutritivo, molle, e quando sono vecchie prendono un colorito giallastro.

Le colture invece della tubercolosi dei mammiferi impiegano molto più tempo per svilupparsi sotto forma di colonie più piccole, grigiastre, a forma di scaglie, fortemente ligate al sostrato nutritivo e resistenti al tatto.

I noduli tubercolari dei mammiferi contengono sempre scarsi bacilli, quelli dei gallinacei contengono grandissima quantità di bacilli tubercolari e molte cellule giganti; abbondante è l'infiltramento linfoide nei tobercoli dei mammiferi, scarso l'è in quello dei gallinacei.

Altri caratteri biologici delle due varietà di bacilli saranno esposti nel lavoro per esteso.

Però da tutti questi fatti esposti io ho acquistato il convincimento, che la tubercolosi dei gallinacei e quella dei mammiferi sieno due infezioni diverse nello stato attuale delle mie ed altrui ricerche e ciò a preferenza pel modo di comportarsi i mammiferi verso quella dei gallinacei, ed i polli adulti verso quella dei mammiferi.

Se la immunità del pollò adulto verso

la tubercolosi dei mammiferi è ora associata, non si conosce però se questo stesso fatto avvenga per l'embrione di pollo.

Dopo ciò, ho innestate a principio dell'incubazione con 1/10 di c:c: di brodo carico di bacilli di tubercolosi umana una serie di uova, le quali hanno dato a schiusa dei pulcini, i quali manifestano una certa denutrizione rispetto ai pulcini di controllo, ammazzando alcuni pulcini nell'epoca in cui gli altri pulcini innestati con tubercolosi di gallinacei erano morti con lesioni manifeste di tubercolosi, non ho riscontrato nè bacilli e nè tubercolosi nel fegato di detti pulcini. Tutti gli altri pulcini di questo esperimento dopo 30 o 40 giorni dalla schiusa sono morti fortemente emaciati senza lesioni tubercolari, nè l'esame istologico ha fatto rilevare presenza di bacilli nei loro organi; il marasma di questi pulcini si rassomigliava a quello dei pulcini nati sotto l'influenza dei prodotti chimici dei bacilli della tubercolosi dei gallinacei: questo fatto a me fa supporre, che l'embrione di pollo ha il potere di distruggere il bacillo della tubercolosi dei mammiferi, ma non ha il potere di distruggere i prodotti chimici risultanti dalla distruzione dello stesso bacillo, i quali prodotti poi influiscono sulla sua nutrizione e sulla sua vitalità: il pollo adulto invece ha il potere di distruggere il bacillo ed i prodotti chimici ancora della tubercolosi dei mammiferi: questo risultato sta sempre a provare il diverso potere che hanno gli esseri organizzati, a secondo i diversi periodi della loro esistenza; restante sempre costante il fatto per l'embrione, che ha il potere d'impedire lo sviluppo di alcuni microbi, ed il potere ancora di distruggere altri microbii nei suoi tessuti.

Conclusioni — Dalle presenti ricerche, senza ulteriori discussioni, dopo questa esposizione sommaria dei fatti ottenuti con l'innesto della tubercolosi dei mammiferi e dei gallinacei ai polli ed agli embrioni degli stessi io posso venire alle seguenti conclusioni:

1° Che l'albumina di uova fecondate e non incubate non è un sostrato nutritivo per il bacillo della tubercolosi dei gallinacei.

2° Che l'albumina fecondata ed incubata è terreno nutritivo propizio allo sviluppo del bacillo della tubercolosi de' gallinacei.

3° Che il bacillo della tubercolosi dei gallinacei, innestato alle uova messe ad incubare, viene trasformato in finissimi granuli sotto l'azione dell'embrione nell'albumina circostante.

4° Che sotto questa forma granulare il virus tubercolare viene assorbito e depositato negli organi dell'embrione verso il decimo giorno d'incubazione.

5° Che il bacillo della tubercolosi dei gallinacei può essere ancora assorbito sotto la sua forma regolare, quando viene innestato nelle uova dal decimo giorno in poi dell'incubazione.

6° Che il bacillo penetrato nel circolo dell'embrione viene dallo stesso trasformato in granuli finissimi e depositati nel fegato, e da questo organo in parte eliminato per segrezione biliare.

7° Che il bacillo della tubercolosi dei gallinacei, sia innestato nelle uova al principio dell'incubazione, che ad epoche inoltrate della stessa, può raccogliersi nello stomaco dell'embrione dal decimo giorno in poi.

8° Che il bacillo nello stomaco dell'embrione subisce ancora una trasformazione granulare, non così poi nella cloaca dello stesso embrione.

9° Che il bacillo della tubercolosi de' gal-

linacei quantunque trasformato sotto forma di granuli, sia nell'albumina, che negli organi dell'embrione, non perde il potere patogeno pei polli adulti e nè quello di trasformarsi in bacillo trasportato sui substrati nutritivi.

10° Che il bacillo è impedito, non solo nella vita embrionale, ma ancora per qualche tempo dopo la schiusa del pulcino, di moltiplicarsi e determinare tubercolosi nei suoi organi.

11° Che le forti dosi dei bacilli innestate agli embrioni non influiscono nè sullo sviluppo e nè sul decorso della tubercolosi, che si svolge nei pulcini; però influiscono sul grado della intensità della lesione a parità di condizione di tempo.

12° Che egualmente l'epoca in cui vien fatto l'innesto alle uova influisce sullo sviluppo delle lesioni dei pulcini, le quali sono più tardive in quei pulcini ne' quali è stato fatto l'innesto a principio della incubazione.

13° Che il grado di denutrizione, che si manifesta negli embrioni, come pure nei pulcini dopo la schiusa devesi attribuire ai prodotti chimici del disfacimento dei bacilli e non all'azione degli stessi, finchè questi non si sviluppino e formano tubercoli.

14° Che gli embrioni divenuti pulcini innestati con sostanze chimiche del bacillo al principio dell'incubazione muoiono per un avvelenamento delle stesse, senza che nei pulcini si manifesti tubercolosi.

15° Che molti pulcini, innestati durante l'incubazione con bacilli, muoiono per avvelenamento dei prodotti chimici generatisi dal disfacimento dei bacilli stessi, senza che si sviluppi la tubercolosi negli stessi pulcini.

16° Che la tubercolosi dei gallinacei non è patogena al sommo grado per alcuni mammiferi.

17° Che la tubercolosi dei mammiferi non è patogena pei polli adulti.

18° Che l'embrione di pollo ha il potere di distruggere il bacillo della tubercolosi dei mammiferi.

19° Che se il bacillo della tubercolosi dei mammiferi è innocuo per l'embrione, i prodotti chimici dello stesso bacillo generatisi dal suo disfacimento nei tessuti embrionali sono nocivi alla nutrizione ed alla vita del pulcino.

20° Che esiste ancora una differenza tra la tubercolosi dei gallinacei e quella dei mammiferi, rispetto al modo dello sviluppo delle loro colture sugli stessi sostrati nutritivi.

Di nuovo io qui dichiaro, che tutti questi miei esperimenti per ora non mirano a risolvere la quistione della trasmissione ereditaria attraverso la placenta, ma bensì allo studio di sapere come si comporta un'embrione rispetto ai microorganismi patogeni e non patogeni dello animale adulto, ed in questo caso del pollo.

Per me la quistione della trasmissione ereditaria per mezzo della placenta va completamente riveduta, perchasi è fatto assegnamento per risolverla solamente se la placenta sia o pur no un filtro, per la presenza od assenza dei microbi nei tessuti embrionali, e non si è mai tenuto calcolo dell'azione dei tessuti embrionali sui microbi innestati alle madri.

Baumgarten fu il primo, che emise l'opinione, a proposito della tubercolosi ereditaria, che l'embrione è più resistente dell'animale adulto all'azione del bacillo della tubercolosi, ipotesi felice, ma mancante fino a questo momento di una dimostrazione sperimentale.

Dai miei studi però eseguiti sull'embrione di pollo col bacillo dell'antrace, col microbio del colera di pollo, col ba-

cillo di Friedländer, e col microbio del barbone dei bufali, (questi ultimi esperimenti non ancora pubblicati, perchè molto simili a quelli del colera di pollo) e con i bacilli della tubercolosi dei gallinacei, dei mammiferi, io posso con tutta coscienza sostenere oggi, che i tessuti embrionali dei polli sono un terreno non molto propizio ai microbi patogeni e non patogeni del pollo adulto, cioè che i tessuti embrionali hanno il potere di distruggere il bacillo del carbonchio, meno la spora, hanno il potere di distruggere lo stesso microbio del colera di pollo, in alcuni casi ancora il bacillo della tubercolosi dei gallinacei e dei mammiferi, meno le forme più resistenti (forme granulari) dello stesso bacillo dei gallinacei, quando questo è innestato a grandi dosi, quando invece se innesto a piccole dosi gli embrioni distruggono fino le forme resistenti del bacillo ed i pulcini non muoiono per tubercolosi, ma per intossicazione dei prodotti chimici generatisi dalla distruzione dei bacilli tubercolari.

Se questa legge così accertata per gli embrioni di pollo possa essere un giorno applicata agli embrioni dei mammiferi, io credo, che verrà rischiarato tutto l'intrigato processo della trasmissione ereditaria e così si possono interpretare le contraddizioni tuttora esistenti fra i diversi ricercatori, che hanno eseguiti esperimenti sulla trasmissione ereditaria della tubercolosi, e fra coloro ancora, che hanno fatto ricerche anatomo-patologiche sulla tubercolosi congenita nell'uomo e negli animali bovini.

Come dall'altra parte si possono interpretare le ricerche, che si sono fatte con microbî ad azione acuta (carbonchio, colera di pollo, barbone dei bufali ec.) per i loro risultati contraddittori sulla esistenza dei microbi, innestati alle madri, nei tes-

suti embrionali: però oggi la maggioranza dei ricercatori ritiene, che i microbi ad azione acuta passano attraversare la placenta: per alcuni, perchè abbondano nel sangue materno, per altri, perchè vi sono lesioni placentali.

Qualunque sia la ragione di questo passaggio dei microbi dalla madre al feto il fatto è, che qualora sono stati riscontrati i microbi nei tessuti embrionali sono stati sempre scarsi, tanto da dover ricorrere alle colture degli organi degli embrioni per constatare la loro presenza.

Dopo ciò resta sempre la quistione, se è l'embrione che si è opposto alla moltiplicazione dei pochi microbi passati dalla madre all'embrione, ovvero se ancora i microbi passati in maggiore quantità sieno stati distrutti dai tessuti embrionali, e che quelli riscontrati nei loro tessuti sono i superstiti della lotta con le cellule embrionali: nè può parlarsi, che non vi è stato tempo per la sopravvenuta morte della madre, perchè i microbi non si sieno potuto moltiplicare, nei tessuti embrionali giacchè specialmente pel carbonchio con quella temperatura, se il terreno embrionale fosse propizio al suo sviluppo, dovrebbero moltiplicarsi rapidamente.

In quanto al bacillo della tubercolosi, iniettato nelle giugulari delle cavie o queste rese tubercolose durante e prima della gravidanza, non riscontrato nei tessuti embrionali, è perchè non è passato attraverso la placenta, o perchè è stato distrutto dagli stessi tessuti embrionali? quest'ultimo fatto è ancora possibile, perchè l'embrione di cavie tubercolotiche ha tutto il tempo per compiere la distruzione del bacillo tubercolare; però questo modo d'interpretare il risultato negativo merita una ricerca sperimentale.

I casi di tubercolosi congenita riscontrati sul tavolo anatomico come andreb-

bero interpretati specialmente nei bovini? per me dato il caso, che ancora i tessuti embrionali dei mammiferi avessero il potere di distruggere i microbi, la tubercolosi congenita avverrebbe appunto in quegli embrioni, che non hanno avuto il potere di distruggere tutti i bacilli.

Se noi diamo uno sguardo alla sifilide congenita dei feti, sia di origine materna, che paterna, si notano dei fatti che si avvicinano a ciò, che si è riscontrato negli embrioni di pollo con tubercolosi, perchè nascono feti da genitori sifilitici, ora sani, ora con sifilide in atto, ed ora con marasma, ed altri feti divengano tardivamente sifilitici; perchè questa differenza di manifestazioni morbose nel feto? devesi alla qualità del virus, od al potere della reazione dei diversi feti verso il virus sifilitico?

È certo però che la trasmissione ereditaria dei microbii attraverso la placenta per me è ancora pendente, finchè non si sieno escogitati nuovi metodi per risolverla, tenendo calcolo in principal modo del potere, che i tessuti embrionali dei mammiferi possono spiegare sui microbii, che hanno attraversato la placenta.

Le mie ricerche finora eseguite in questo senso non raggiungono quella certezza con la quale io ora mi posso pronunziare per i tessuti embrionali di pollo e stabilire le seguenti generali conclusioni:

1° Che l'embrione di pollo finchè vive si oppone allo sviluppo dei microbii patogeni e non patogeni del pollo adulto penetrati nei suoi tessuti dall'albumina circostante.

2° Che l'embrione di pollo ha ancora il potere di distruggere i microbii patogeni del pollo adulto penetrati nei suoi tessuti.

3° Che se l'embrione di pollo non giunge a distruggere i microbii patogeni del pollo adulto penetrati nei suoi tessuti, detti microbii sono capaci di generare il morbo nei pulcini, se virus ad azione acuta dopo poco tempo dalla schiusa, se ad azione cronica dopo molto tempo.

Pisa, 1° Agosto 1889.

